مجله دانشکده علوم پزشکی نیشابور

www.journalnums.ac.ir

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:34 IRST on Thursday March 9th 2023

بررسی ترکیب شیمیایی ، خواص آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی نانوامولسیون اسانس برازمبل (*Perovskia abrotanoides*) علیه پاتوژن‌های غذایی

کتایون احمدی[1]، محمد محسن زاده[1,*]، زهرا پناهی[1]، رویا رضائیان دلویی[2]

۱- گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- گروه علوم کشاورزی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۷

***نویسنده مسئول:** محمد محسن زاده

استاد، گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تلفن: ۰۵۱۳۸۸۰۵۶۳۵

پست الکترونیک:

mohsenzadeh@um.ac.ir

چکیده

مقدمه

اسانس‌های گیاهی بدلیل دارا بودن خواص ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این مطالعه با هدف شناسایی ترکیب شیمیایی، خواص آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی نانوامولسیون اسانس برازمبل انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

ترکیب شیمیایی اسانس با دستگاه گازکروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی تعیین گردید. خواص آنتی اکسیدانی اسانس به روش احیای رادیکال آزاد و اثر ضد میکروبی آن علیه باکتری‌های *آئروموناس هیدروفیلا*، *باسیلوس سرئوس*، *اشرشیا کلی*، *لیستریا مونوسایتوژنز*، *سالمونلا تایفی موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* و به روش‌های میکرودایلوشن براث، انتشار در چاهک آگار و انتشار از دیسک تعیین گردید.

یافته‌ها

در آنالیز شیمیایی اسانس برازمبل ۲۱ ترکیب شناسایی شد که اوکالیپتول، کامفور و آلفا-پینن بیشترین مقدار را داشتند. IC_{50} اسانس برازمبل برابر ۴۶/۴۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. در بین باکتری‌های مورد مطالعه در روش میکرودایلوشن براث، *اشرشیا کلی* و *لیستریا مونوسایتوژنز* با MIC برابر ۰/۰۳ درصد بیشترین حساسیت و *استافیلوکوکوس اورئوس* با MIC برابر ۰/۲ درصد، کمترین حساسیت را نسبت به نانوامولسیون اسانس برازمبل نشان دادند. هاله‌ی عدم رشد در روش انتشار از دیسک در غلظت‌های مورد مطالعه، از ۷/۰۶±۰/۶۰ تا ۵۸/۴۳±۱/۴۰ میلی‌متر و در روش انتشار در چاهک آگار بین ۶/۰±۵۶/۶۰ تا ۵۴/۹۳±۱/۱۰ میلی‌متر متغیر بود.

نتیجه‌گیری

اسانس برازمبل می‌تواند با وجود ترکیبات فنلی و کامفور به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی طبیعی در صنعت غذا مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها

نانوامولسیون، اسانس برازمبل، پاتوژن‌های غذایی، میکرودایلوشن براث، ضد باکتریایی

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:34 IRST on Thursday March 9th 2023

مقدمه

گیاهان دارویی با اهداف درمانی و طعم دهنده از گذشته‌های بسیار دور مورد استفاده قرار می‌گرفته‌اند. مطالعات مختلف انجام شده در دنیا حاکی از آن است که عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهان دارویی که از قسمت‌های مختلف گیاهان استخراج و جداسازی می‌شوند، به دلیل ترکیبات شیمیایی خاص خود دارای خواص متفاوتی همانند توانایی جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها را دارند (۱). امروزه با جایگزین کردن عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی بجای ترکیبات شیمیایی و سنتزی به منظور نگهداری مواد غذایی و افزایش زمان ماندگاری آن‌ها از خطرات بهداشتی و آسیب‌های ناشی از استفاده از آنها برای سلامت مصرف‌کنندگان کاسته شده است (۲، ۳). یکی از دغدغه‌های مهم در صنعت غذا کنترل بیماری‌های با منشاء غذایی و افزایش زمان ماندگاری محصولات غذایی می‌باشد (۴، ۵، ۶). گیاه برازمبل[1](با نام بومی گل کبود، دومو[2] و گوره[3])، گیاهی پایا، درختچه‌ای چند ساله با گل‌های آبی متمایل به بنفش و متعلق به خانواده‌ی نعنائیان می‌باشد (۷، ۸).

نعنائیان دارای ترکیبات مهمی همانند ترپنوییدها، فلاونویید و همچنین ترکیبات فنلی، اسیدهای چرب و ترکیبات استروئیدی و ایریدوئیدهای گلیکوزیدی می‌باشند (۹، ۱۰)این گیاه در شمال ایران، افغانستان، پاکستان، ترکمنستان و اقلیم‌های کوهستانی و سرد و خشک به صورت وحشی و خودرو رشد می‌کند. گل، برگ و ساقه گیاه برازمبل دارای اسانس فراوانی است که می‌تواند در صنایع داروسازی، آرایشی-بهداشتی و غذایی مورد استفاده قرار گیرد (۳، ۸). در طب سنتی در درمان بیماری‌های قلبی و عروقی، مشکلات کبدی، بیماری‌های عفونی، لیشمانیوز[4]، دردهای روماتیسمی و موارد التهابی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳، ۱۱). بخش‌های مختلف گیاه برازمبل دارای اثرات ضدباکتریایی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی می‌باشد (۸، ۱۲).

یکی از مشکلات استفاده از اسانس‌های گیاهی، ناپایداری و فراریت آن‌ها می‌باشد. بر طبق مطالعات انجام شده مشخص شد که با کاهش اندازه ذرات اسانس‌ها در ابعاد نانومتر و ایجاد نانوامولسیون، خواص مکانیکی و اثرات بیولوژیکی و آنتی اکسیدانی اسانس افزایش می‌یابد (۱۳). مطالعات انجام شده توسط هاشمی گهروئی و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که فعالیت بیولوژیکی نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی با حامل مواد بسته‌بندی پلیمری در مقایسه با امولسیون اسانس افزایش می‌یابد (۱۳). حیدری و باقری (۲۰۱۹) گزارش کردند که نانوامولسیون سنتز شده بر پایه‌ی اسانس گیاهی نعنا فلفلی[5] از پایداری مناسب برخوردار بوده و خواص ضد میکروبی بالایی علیه باکتری *اشرشیا کلی* دارد. کاهش ذرات در ابعاد نانومتر، سبب بهبود ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس شد (۱۴). تاکنون مطالعاتی در خصوص خواص ضد میکروبی نانوامولسیون اسانس برازمبل انجام نشده است؛ بر همین اساس، این مطالعه با هدف شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس برازمبل و ارزیابی خصوصیات ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی نانوامولسیون آن علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مهم پاتوژن با منشاء غذایی که در صنعت غذا اهمیت بسیاری دارند و می‌توانند سبب عفونت یا مسمومیت غذایی در مصرف کننده شوند شامل *آئروموناس هیدروفیلا*[6]،

[1] *Perovskia abrotanoides* kar.
[2] Domou
[3] Gevereh
[4] leishmaniasi
[5] *Mentha piperita*
[6] *Aeromonas hydrophila*

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:34 IRST on Thursday March 9th 2023

باسیلوس سرئوس[1]، *اشرشیا کلی*[2]، *لیستریا مونوسایتوژنز*[3]، *سالمونلا تایفی موریوم*[4] و *استافیلوکوکوس اورئوس*[5] در محیط کشت با استفاده از روش‌های میکرودایلوشن براث، انتشار از دیسک[6] و انتشار در چاهک آگار[7] انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری، استخراج و تهیه‌ی اسانس برازمبل: گیاه برازمبل از مناطق کوهستانی شهرستان درگز در استان خراسان رضوی (شمال شرقی ایران) در فصل بهار جمع‌آوری گردید و توسط پژوهشکده‌ی علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد تایید شد. سپس تمیز و با گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس خشک و به وسیله‌ی دستگاه آسیاب (Moulinex, Spain) خرد گردید. میزان ۵۰ گرم از آن به روش تقطیر آبی[8] و با کمک دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شد. اسانس تهیه شده پس از آبگیری توسط سولفات سدیم بدون آب، در شیشه‌های غیرقابل نفوذ به نور و در دمای یخچال نگه‌داری شد. اجزای تشکیل دهنده‌ی اسانس توسط دستگاه گاز کروکاتوگرافی (Agilent ۶۸۹۰) متصل به طیف سنج جرمی (Agilent ۵۹۷۳) تعیین گردید (۱۵، ۱۶).

باکتری‌های مورد مطالعه: خصوصیات ضد میکروبی نانوامولسیون اسانس برازمبل علیه *Aeromonas hydrophila* (ATCC 7966)، *Bacillus cereus* (ATCC 10876)، *Escherichia coli* (ATCC 25922)، *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644)، *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028) و *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) مورد بررسی قرار گرفت. باکتری‌ها از کلکسیون میکروارگانیسم‌های گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردیدند.

آماده سازی باکتری‌های مورد مطالعه: به منظور تهیه کشت تازه باکتریایی، ابتدا باکتری‌های مورد مطالعه در محیط کشت مغذی عمومی آگار BHI[9] (Merck, Germany) کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. سپس از کشت تازه ۲۴ ساعته باکتری‌های مورد مطالعه، سوسپانسیون باکتریایی با غلظت نیم مک فارلند (۱/۵ × ۱۰[۸] CFU/mL) با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل تهیه و جذب نوری آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر در دامنه ۱-۰/۰۸ تعیین گردید. به منظور تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی نانوامولسیون اسانس، از سوسپانسیون باکتریایی آماده شده، غلظت معادل CFU/ml ۱۰[۶] تهیه گردید (۳، ۶).

تهیه‌ی نانوامولسیون اسانس برازمبل: ابتدا امولسیون اسانس با غلظت ۱۰ درصد به کمک توین۸۰ (Sigma-Aldrich) و آب مقطر دیونیزه تهیه و توسط دستگاه اولتراتوراکس(IKA T18 digital) با دور ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه کاملا یکنواخت گردید. با استفاده از دستگاه اولتراسوند (200 W HF-power، شرکت Bandelin آلمان) و فرکانس ۲۰ کیلو هرتز به مدت ۱۵ دقیقه، پالس ۱۰۰ ثانیه و استراحت ۵ ثانیه در دمای ۲۰ درجه‌ی سلسیوس، نانوامولسیون اسانس تهیه شد و در ظرف غیر قابل نفوذ به نور و دمای یخچال نگهداری شد (۱۷).

تعیین اندازه ذرات نانوامولسیون برازمبل: به منظور تعیین اندازه ذرات نانوامولسیون برازمبل، نمونه‌ها آماده‌سازی و در ۵ تکرار در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس از دستگاه

[1] *Bacillus cereus*
[2] *Escherichia coli*
[3] *Listeria monocytogenes*
[4] *Salmonella typhimurium*
[5] *Staphylococcus aureus*
[6] Disk diffusion
[7] Agar well diffusion
[8] Hydro distillation
[9] Brain Heart Infusion

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:34 IRST on Thursday March 9th 2023

اندازه‌گیری اندازه ذرات (DLS)[1] (Cordouan- مدل Vasco3-فرانسه) استفاده گردید (۱۷).

تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی امولسیون اسانس برازمبل با روش DPPH: ظرفیت آنتی اکسیدانی با روش احیای رادیکال آزاد DPPH[2] تعیین شد. غلظت‌های مختلفی از امولسیون اسانس برازمبل و محلول ۰/۰۰۴ درصد از معرف DPPH در متانول تهیه شد. سپس به میزان ۵ میلی‌لیتر از این محلول به غلظت‌های مختلف اسانس افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس و در مکان تاریکی نگهداری شد. پس از این مدت جذب نوری نمونه‌ها در مقایسه با بلانک، در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. درصد مهار رادیکال DPPH از فرمول زیر محاسبه شد و غلظتی از اسانس که دارای ۵۰ درصد مهار رادیکالی (IC_{50}) باشد تعیین گردید (۳).

$$I\% = (A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}) \times 100$$

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC): حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی اسانس مطابق روش براث میکرودایلوشن در محیط کشت مغذی عمومی براث BHI[3] (Merck, Germany) توصیف شده به وسیله ترابیان کاخکی و همکاران (۲۰۲۰) با کمی تغییرات انجام شد (۳). بدین منظور غلظت‌های مختلف ۰/۰۰۷، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۱۲، ۰/۲۵، ۰/۵۰، ۱ درصد از نانوامولسیون اسانس تهیه شد. به هر یک از چاهک‌های میکروتیتر پلیت U-bottom ۹۶ خانه‌ای (Spektar, Čačak, Serbia)، ۱۶۰ میکرولیتر از محیط کشت براث BHI (Merck, Germany) و ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری با غلظت معادل 10^6 CFU/mL و ۲۰ میکرولیتر نانوامولسیون اسانس با غلظت‌های تعیین شده اضافه شد. به منظور کنترل کیفیت روش کار تعدادی از چاهک‌ها نیز به عنوان کنترل مثبت (واجد باکتری و فاقد اسانس) و منفی (محیط کشت استریل و فاقد باکتری) در نظر گرفته شدند. پلیت‌های حاوی باکتری‌های مورد مطالعه در شرایط هوازی و دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۲۴-۴۸ ساعت گرمخانه گذاری شدند. پلیت حاوی *Aeromonas hydrophila* در شرایط میکروآئروفیلیک و دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۴۸-۲۴ ساعت گرمخانه گذاری گردید. به منظور بررسی رشد و یا عدم رشد باکتری در مقایسه با گروه‌های کنترل، به چاهک‌ها معرف تری فنیل تترازولیوم کلراید[4](TTC) اضافه شد. تغییر رنگ محیط به قرمز و یا عدم آن بعد از گرمخانه گذاری نشان دهنده رشد یا عدم رشد باکتری بود. کمترین غلظتی که در آن هیچ‌گونه رشد باکتری و یا تغییر رنگ مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)، از غلظت‌های مهارکنندگی (MIC) مربوط به نانوامولسیون اسانس و غلظت‌های بالاتر از آن که فاقد رشد مشخص باکتری بودند (عدم کدورت) برداشته و روی محیط کشت آگار BHI (Merck, Germany) کشت داده و پلیت حاوی *Aeromonas hydrophila* در شرایط میکروآئروفیلیک و دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس و سایر باکتری‌ها در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری شدند. کمترین غلظت از نانوامولسیون اسانس که در آن هیچ رشدی از باکتری (کمتر از پنج پرگنه) مشاهده نشد، به عنوان MBC در نظر گرفته شد (۳).

ارزیابی خصوصیات ضد باکتریایی نانوامولسیون اسانس: به منظور ارزیابی خصوصیات ضد میکروبی

[1] Dynamic Light Scattering
[2] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
[3] Brain Heart Infusion
[4] Triphenyltetrazolium chloride (TTC)

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:34 IRST on Thursday March 9th 2023

نانومولسیون اسانس غلظت معادل نیم مک فارلند از هریک از باکتری‌های مورد مطالعه تهیه و با استفاده از سوآب استریل روی محیط کشت آگار مولر هینتون[1] (MHA; Merck) کشت داده شد. در روش انتشار از دیسک ابتدا دیسک‌های بلانک کاغذی استریل (پادتن طب، ایران) در غلظت‌های ۰/۰۰۷، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۱۲، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد از نانومولسیون اسانس به مدت ۰/۵ ساعت قرار داده شدند و سپس خشک گردیدند. از دیسک‌های حاوی اتانول به عنوان کنترل منفی و دیسک آنتی بیوتیک جنتامایسن[2] (پادتن طب، ایران) (۱۰ µg) به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید (۳). در روش انتشار در چاهک آگار، میزان ۲۰ میکرولیتر از نانومولسیون اسانس برازمبل با غلظت‌های مختلف ذکرشده در بالا در چاهک‌های یکنواخت به قطر ۶ میلی‌متر و عمق ۵ میلی‌متر که روی محیط کشت آگار مولر هینتون (MHA; Merck) تعبیه شده بود، اضافه گردید. کلیه پلیت‌ها در حرارت مناسب و زمان مشخص برای رشد باکتری‌ها قرار داده شدند (۵). آزمایش‌های ضد میکروبی در ۳ تکرار انجام شد و میانگین هاله عدم رشد باکتری‌ها توسط کولیس اندازه‌گیری و گزارش گردید. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ و به کمک آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. سطح معنی‌داری معادل ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

ترکیب شیمیایی اسانس برازمبل: اسانس برازمبل پس از استخراج با استفاده از دستگاه گازکروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS)، مورد آنالیز قرار گرفت. بر طبق نتایج بدست آمده، ۲۱ ترکیب شیمیایی از این اسانس شناسایی گردید (جدول ۱). اوکالیپتول (Eucalyptol) با ۲۴/۵۱ درصد، کامفور (Camphor) با ۲۲/۰۲ درصد، آلفا-پینن (α-Pinene) با ۱۷/۳۵ و ۳-کارن (3-Carene) با ۱۱/۰۵ درصد عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده‌ی این گیاه شناخته شدند.

جدول ۱-ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه برازمبل (*Perovskia abrotanoides*)

ردیف	ترکیبات	درصد نسبی ترکیبات	RT
۱	α-Pinene	۱۷/۳۵	۱۰/۳۷
۲	Camphene	۵/۸۸	۱۱/۱۷
۳	β-Pinene	۰/۵۰	۱۲/۶۱
۴	β-Myrcene	۰/۸۳	۱۳/۳۲
۵	3-Carene	۱۱/۰۵	۱۴/۲۷
۶	o-Cymene	۱/۴۵	۱۵/۲۴
۷	Limonene	۲/۰۹	۱۵/۴۴
۸	Eucalyptol	۲۴/۵۱	۱۵/۶۴
۹	γ-Terpinene	۰/۲۶	۱۷/۱۱
۱۰	Terpinolene	۰/۱۸	۱۸/۶۲
۱۱	Linalool	۰/۲۷	۱۹/۵۹
۱۲	Camphor	۲۲/۰۲	۲۲/۲۸
۱۳	endo-Borneol	۰/۷۷	۲۳/۶۵
۱۴	α-Terpineol	۱/۰۸	۲۵/۰۲
۱۵	Bornyl acetate	۲/۸۱	۲۹/۹۱
۱۶	3-Methyl-4-isopropylphenol	۰/۸۹	۳۰/۸۶
۱۷	Thymol	۱/۱۷	۳۳/۲۷
۱۸	β-Guaiene	۰/۱۵	۳۴/۵۹
۱۹	Caryophyllene	۳/۲۴	۳۶/۸۳
۲۰	Humulene	۲/۴۶	۳۸/۶۴
۲۱	.tau.-Cadinol	۰/۹۴	۴۶/۲۴
۲۲	Total	۹۹/۹۰	

حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و کشندگی (MBC) نانومولسیون اسانس برازمبل: نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) نانومولسیون اسانس برازمبل در جدول ۲ آمده است. با توجه به نتایج بدست آمده، باکتری *اشرشیا*

[1] Mueller Hinton agar
[2] Gentamicin

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:34 IRST on Thursday March 9th 2023

کلی و *لیستریا مونوسایتوژنز* با MIC برابر ۰/۰۳ درصد بیشترین حساسیت و *استافیلوکوکوس اورئوس* با MIC برابر ۰/۲ درصد، کمترین حساسیت را نسبت به نانوامولسیون اسانس برازمبل از خود نشان دادند.

جدول۲- MIC و MBC نانوامولسیون اسانس برازمبل

میکروارگانیسم	MIC(درصد)	MBC(درصد)
آئروموناس هیدروفیلا	۰/۰۶	۰/۱۲
باسیلوس سرئوس	۰/۰۶	۰/۱۲
اشرشیا کلی	۰/۰۳	۰/۰۶
لیستریا مونوسایتوژنز	۰/۰۳	۰/۰۶
سالمونلا تایفی موریوم	۰/۱۲	۰/۲۵
استافیلوکوکوس اورئوس	۰/۲۵	۰/۵

ارزیابی خصوصیات ضد میکروبی نانوامولسیون اسانس برازمبل

نتایج هاله عدم رشد باکتری‌های مورد مطالعه توسط نانوامولسیون اسانس برازمبل به روش‌های انتشار در چاهک آگار و انتشار از دیسک به ترتیب در جداول ۳ و ۴ آمده است. میزان هاله عدم رشد در روش انتشار از دیسک در غلظت‌های مورد مطالعه، بین ۷/۰۶±۰/۶۰ تا ۵۸/۴۳±۱/۴۰ میلی‌متر و در روش انتشار در چاهک آگار بین ۶/۵۶±۰/۶۰ تا ۵۴/۹۳±۱/۱۰ میلی‌متر متغیر بود.

جدول۳- اثر ضدمیکروبی نانوامولسیون اسانس برازمبل علیه باکتری‌های مورد مطالعه به روش انتشار در چاهک آگار

غلظت	میانگین هاله‌های مهاری (میلی‌متر)					
	آئروموناس هیدروفیلا	*باسیلوس سرئوس*	*اشرشیا کلی*	*لیستریا مونوسایتوژنز*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*سالمونلا تایفی موریوم*
۱ درصد	۲۸/۵۰±۰/۵۵ a	۳۲/۸۳±۱/۲۵ a	۲۲/۱۳±۰/۸۰ a	۳۹/۸۶±۱/۲۰ a	۱/۱۰±۵۴/۹۳ a	۲۵/۱۶±۱/۰۴ a
۰/۵ درصد	۱۴/۲۳±۰/۷۵ b	۱۹/۸۶±۱/۲۰ b	۱۵/۲۶±۱/۴۱ b	۲۵/۸۰±۱/۰۵ b	۲۷/۱۶±۱/۰۴ b	۱۳/۵۶±۰/۵۱ b
۰/۲۵ درصد	۱۱/۲۳±۱/۱۶ c	۱۴/۷۳±۱/۱۱ c	۱۱/۱۰±۱/۱۵ c	۱۵/۰۶±۱/۰۰ c	۲۳/۶۶±۱/۰۴ c	۰/۶۰±۱۰/۵۶ c
۰/۱۲ درصد	۰/۷۰±۶/۸۶ d	۱/۱۶±۸/۲۶ d	۷/۲۳±۰/۶۸ d	۹/۱۶±۰/۷۶ d	۱۵/۰۶±۰/۸۶ d	۰/۶۰±۶/۵۶ d
۰/۰۶ درصد	-	-	-	۷/۰۰±۰/۵۰ e	۹/۹۰±۱/۱۵ e	-
۰/۰۳ درصد	-	-	-	-	-	-

- به معنای فقدان هاله‌ی عدم رشد می‌باشد.

جدول ۴- اثر ضدمیکروبی نانوامولسیون اسانس برازمبل علیه باکتری‌های مورد مطالعه به روش انتشار از دیسک

تیمار(غلظت)	میانگین‌هاله ی عدم رشد (میلی متر)					
	آئروموناس هیدروفیلا	*باسیلوس سرئوس*	*اشرشیا کلی*	*لیستریا مونوسایتوژنز*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*سالمونلا تایفی موریوم*
۱ درصد	۲۹/۰۳±۱/۱۰ b	۳۴/۸۶±۱/۲۰ b	۲۹/۸۳±۱/۲۵ b	۴۲/۴۳±۱/۴۰ b	۱/۴۰±۵۸/۴۳ a	۳۰/۱۶±۱/۲۵ b
۰/۵ درصد	۱۶/۹۳±۱/۱۰ c	۲۲/۴۳±۱/۴۰ c	۲۶/۹۳±۱/۱۰ c	۳۷/۵۰±۱/۵۰ C	۴۱/۱۶±۱/۰۴ b	۱۵/۲۶±۰/۶۶ c
۰/۲۵ درصد	۱۲/۱۶±۱/۲۵ d	۱۶/۵۶±۱/۲۵ d	۱۶/۶۶±۱/۵۲ d	۱۶/۶۰±۱/۵۰ d	۲۴/۰۶±۰/۹۰ c	۱/۰۵±۱۲/۱۶ d
۰/۱۲ درصد	۸/۰۳±۰/۹۵ e	۷/۲۳±۰/۸۰ e	۹/۳۳±۱/۰۴ e	۱۰/۵۰±۰/۵۰ e	۱۷/۰۳±۱/۰۰ d	۰/۶۵±۷/۳۳ e
۰/۰۶ درصد	-	-	۷/۰۶±۰/۶۰ f	۸/۲۳±۰/۸۷ f	۹/۱۶±۱/۰۴ e	-
۰/۰۳ درصد	-	-	-	-	۷/۰۶±۰/۶۰ f	-
جنتامایسین	۴۷/۲۳±۰/۹۲ a	۴۴/۸۳±۱/۲۵ a	۴۸/۲۶±۰/۶۴ a	۵۷/۶۰±۱/۲۱ a	۵۹/۱۳±۰/۸۰ a	۱/۴۵±۴۶/۹۶ a

- به معنای فقدان هاله‌ی عدم رشد می‌باشد.

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:34 IRST on Thursday March 9th 2023

فعالیت آنتی اکسیدانی امولسیون اسانس برازمبل

بر طبق یافته‌ها، با افزایش غلظت اسانس، قدرت مهار رادیکال آزاد نیز افزایش می‌یابد. غلظتی از اسانس که سبب مهار ۵۰ درصد رادیکال آزاد DPPH در مقایسه با این غلظت در آنتی اکسیدان سنتزی BHT[1] شد، برابر ۴۶/۴۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید.

اندازه‌ی ذرات نانوامولسیون اسانس برازمبل

مطابق نتایج بدست آمده، میانگین اندازه‌ی ذرات نانوامولسیون اسانس برازمبل با ۵ تکرار، ۳۲/۴۳±۱۶۲/۱۱ نانومتر تعیین گردید.

بحث

در مطالعه‌ی حاضر بیشترین ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس برازمبل شامل اوکالیپتول (Eucalyptol) با ۲۴/۵۱ درصد، کامفور (Camphor) با ۲۲/۰۲ درصد، آلفا-پینن (α-Pinene) با ۱۷/۳۵ و ۳-کارن (3-Carene) با ۱۱/۰۵ درصد بود (جدول ۱). مرتضی سمنانی (۲۰۰۴)، ۲۱ ترکیب شیمیایی در اسانس برازمبل توسط طیف سنج جرمی را شناسایی کرد که کامفور با ۳۴/۱ درصد، ۸/۱-سینئول با ۱۸ درصد، بتا-کاریوفیلن با ۸/۲ درصد و آلفا-هومولن با ۶/۵ درصد، مهم‌ترین این ترکیبات بودند که از بابت مقادیر بالایی از کامفور با مطالعه حاضرمطابقت دارد (۱۸). اردمگیل[2] و همکاران (۲۰۰۷)، ترکیبات شیمیایی اسانس برازمبل بلوچی[3] را با دستگاه طیف سنج جرمی تعیین کردند. آنها در این مطالعه، کامفور (camphor) با ۲۸/۹۱ درصد، لیمونن (limonene) با ۱۶/۷۲ درصد، آلفا-گلوبولول (α-globulol) با ۱۰/۲۱ درصد، ترانس-کرایوفیلن (trans-caryophyllene) با ۹/۳۰ درصد و آلفا-همولن (α-humulene) با ۹/۲۵ درصد را به عنوان عمده‌ترین ترکیبات اسانس گزارش کردند (۱۹) در حالیکه حافظ قرآن[4] و همکاران (۲۰۱۶) و متولی زاده کاخکی و همکاران (۲۰۱۳)، ترکیبات اصلی اسانس برازمبل گونه‌ی *Perovskia artemisioides* Boiss. را، ۸/۱-سینئول (1,8-cineole) با ۲۹/۹ درصد، کامفور (camphor) با ۲۹/۵ درصد، آلفا پینن (α-pinene) با ۷/۸ درصد گزارش کردند که وجود کامفور و آلفا پینن در ترکیبات عمده‌ی مطالعات آنها با مطالعه‌ی حاضر مطابقت داشت (۲۰، ۲۱). در مقایسه‌ی مطالعات ذکر شده با مطالعه حاضر مواردی از تطابق یا عدم تطابق در نوع و میزان این ترکیبات مشاهده می‌گردد که می‌تواند ناشی از عوامل مختلفی چون ژنتیک، محل رویش، بخش‌های مختلف گیاه، زمان برداشت و نحوه‌ی اسانس‌گیری باشد (۲۲).

نتایج نشان داد در بین باکتری‌های مورد مطالعه، *اشرشیا کلی*، *لیستریا مونوسایتوژنز*، *باسیلوس سرئوس* و *آئروموناس هیدروفیلا* بیشترین حساسیت و *سالمونلاتایفی موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* کمترین حساسیت را نسبت به نانوامولسیون اسانس برازمبل نشان دادند (جدول ۲). میزان‌هاله‌ی عدم رشد در روش انتشار از دیسک در غلظت‌های مورد مطالعه، بین ۷/۰۶±۰/۶۰ تا ۵۸/۴۳±۱/۴۰ میلی‌متر و در روش انتشار در چاهک آگار بین ۶/۵۶±۰/۶۰ تا ۵۴/۹۳±۱/۱۰ میلی‌متر متغیر بود (جداول ۳ و ۴). بر طبق مطالعه‌ی حاضر به نظر می‌رسد تفاوت میزان‌هاله‌ی عدم رشد در دو روش قید شده می‌تواند به عواملی مانند قابلیت انتشار بهتر اسانس در روش انتشار از دیسک و عمق چاهک‌ها به عنوان محدودیتی در روش انتشار در چاهک آگار بستگی داشته باشد. بر اساس نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی نانوامولسیون اسانس برازمبل به روش‌های انتشار در چاهک آگار و انتشار از دیسک مشخص گردید که در مقایسه با سایر باکتری‌های مورد مطالعه در دو روش

[1] Butylated hydroxytoluene
[2] Erdemgil
[3] *Perovskia atriplicifolia*
[4] Hafez Ghoran

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:34 IRST on Thursday March 9th 2023

انتشار در چاهک آگار و انتشار از دیسک، *استافیلوکوکوس اورئوس* با هاله عدم رشد معادل ۱/۴۰±۵۸/۴۳ میلی‌متر در غلظت ۱ درصد دارای بیشترین حساسیت نسبت به نانوامولسیون اسانس برازمبل می‌باشد. طبق روش انتشار در چاهک آگار، *استافیلوکوکوس اورئوس* با هاله عدم رشد معادل ۱/۱۰±۵۴/۹۳ میلی‌متر در غلظت ۱ درصد نیز به عنوان حساس‌ترین گزارش شد (جداول ۳ و ۴). بدلیل اینکه تا کنون مطالعه‌ای در خصوص اثر ضد میکروبی نانوامولسیون اسانس برازمبل در داخل یا خارج منتشر نشده است، در بحث و بررسی نتایج به مطالعات انجام شده در خصوص امولسیون اسانس برازمبل و سایر گیاهان تیره نعنائیان پرداخته خواهد شد. نتایج حاصل از مطالعه‌ی صفائی قمی و بتولی (۲۰۱۰)، حاکی از اثر مطلوب اسانس برازمبل در جلوگیری از رشد *کاندیدا آلبیکنس*، *آسپرژیلوس فومیگاتوس* و *سالمونلا تیفی* می‌باشد که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد (۲۲). بر همین اساس در مطالعه‌ای توسط حامدی و همکاران (۲۰۱۳)، اثر ضدباکتری چند اسانس از تیره‌ی نعنائیان (مرزه‌ی بختیاری[1]، آویشن شیرازی[2]، آویشن دنایی[3]، آویشن کرمانی[4]، کاکوتی[5]) علیه باکتری‌های *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسایتوژنز*، *سالمونلا تایفی موریوم*، *پروتئوس وولگاریس* به روش انتشار از دیسک بررسی شد. نتایج نشان داد میزان هاله‌ی عدم رشد بین ۷ تا ۳۳ میلی‌متر متغیر بود. بهترین فعالیت ضدمیکروبی در اسانس گیاهان مرزه‌ی بختیاری و آویشن دنایی مشاهده شد و از سوی دیگر غلظت‌های ۸، ۱۶ و ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ی کاکوتی بر رشد باکتری تأثیری نداشت. فعال‌ترین غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌کرد. حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی مطالعه حاضر با پژوهش‌های قبلی در این حوزه، نتایج مشابهی داشت که به دلیل وجود ترکیبات مؤثره‌ی مختلفی در این گیاه چون کامفور است که سبب توانایی مهار رشد باکتری‌ها می‌شود (۲۳). در مطالعه قاسمی و همکاران (۲۰۱۰) نیز، اثر ضد میکروبی عصاره‌های گل راعی[6]، مورد[7]، بنه[8]، ابوخلسا[9]، مریم گلی[10]، مرزه‌ی بختیاری، آویشن دنایی و کرفس کوهی[11] علیه باکتری‌های *اشرشیا کلی* $O_{157}:H_7$ ، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا مونوسایتوژنز* و *کاندیدا آلبیکانس* به روش انتشار از دیسک ارزیابی شد. بر طبق نتایج مشخص شد از بین گیاهان مورد مطالعه، فعال‌ترین عصاره‌ها آن‌هایی بودند که از اسانس گیاه مورد و آویشن دنایی تهیه شده بودند و مقادیر MIC برای عصاره‌ی فعال و اسانس بین ۰/۰۳۹ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. در نتیجه پیشنهاد کردند که می‌توان از این ترکیبات به عنوان عوامل ضد میکروبی طبیعی در نگهداری مواد غذایی استفاده کرد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد (۲۴). محبوبی و کاظم پور (۲۰۰۹) نیز خواص ضدمیکروبی اسانس برازمبل را با روش‌های انتشار از دیسک و میکرودایلوشن براث بررسی کردند. در این مطالعه ترکیبات شیمیایی اسانس برازمبل نیز شناسایی و خاصیت ضد میکروبی ترکیبات عمده‌ی اسانس علیه میکروارگانیسم‌های ذکر شده بررسی شد و نتایج نشان داد که اسانس برازمبل بیشترین فعالیت ضدمیکروبی علیه *کاندیدا آلبیکنس* و باکتری‌های گرم مثبت به ویژه *استافیلوکوکوس اورئوس* دارد وکمترین

[1] *Satureja bachtiarica*
[2] *Zataria multiflora*
[3] *Thymus daenensis*
[4] *Thymus carmanicus*
[5] *Ziziphora tenuior*

[6] *Hypericum scabrum* L.
[7] *Myrtus communis* L.
[8] *Pistachia atlantica* Desf.
[9] *Arnebia euchroma*
[10] *Salvia hydrangea* DC.
[11] *Kelussia odoratissima* Mozff.

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:34 IRST on Thursday March 9th 2023

حساسیت مربوط به *آسپرژیلوس نایجر* و باکتری‌های گرم منفی بود. همچنین فعالیت ضد میکروبی ۸/۱- سینئول بیشتر از آلفا پینن و کامفور بود اما پس از ۶۰ دقیقه این اثر به تدریج فقط برای ۸/۱- سینئول کاهش یافت و در نهایت فعالیت ضد باکتریایی کامفور بیشتر از آلفا پینن بود و ۸/۱- سینئول فعالیت ضد میکروبی ضعیفی در برابر همه میکروارگانیسم‌های آزمایش شده داشت (۸). بررسی متون انتشار یافته داخلی نشان داد تا کنون مطالعه‌ای بر روی خواص ضد میکروبی نانوامولسیون اسانس برازمبل انجام نشده است و مطالعه حاضر به عنوان اولین مطالعه در این زمینه می‌باشد. یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد که خواص ضد میکروبی نانوامولسیون اسانس برازمبل احتمالا مربوط به ترکیبات آلفا-پینن و کامفور می‌باشد که نیاز به بررسی اجزاء تشکیل دهنده اسانس دارد. نتایج حاصل از آزمایشات نشان می‌دهد که نانوامولسیون اسانس برازمبل بر روی تمام باکتری‌های مورد مطالعه اثر ممانعت کننده داشته است ولی در بعضی از باکتری‌ها، اثر آن بیشتر بوده است. عوامل مختلفی از جمله قدرت ضد میکروبی اسانس، ترکیبات تشکیل دهنده آن، منابع تهیه آن، نوع باکتری و دیواره سلولی آن، مکانیسم‌های مقاومت نسبت به ترکیبات ضد میکروبی و سایر عوامل داخلی و خارجی از جمله pH، مدت زمان و دمای گرمخانه‌گذاری بر روی خواص ضد میکروبی اسانس تاثیر دارند.

نتایج بررسی خواص آنتی اکسیدانی نانوامولسیون اسانس برازمبل نشان داد مهار ۵۰ درصد رادیکال آزاد DPPH توسط ۴۶/۴۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر امولسیون اسانس برازمبل انجام شد که حاکی از فعالیت آنتی اکسیدانی مطلوب اسانس برازمبل می‌باشد. در پژوهشی توسط غفوریان و مازندرانی (۲۰۱۷)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی گیاه برازمبل توسط DPPH بررسی گردید. بر طبق نتایج، عصاره‌ی برازمبل با IC_{50} معادل ۱/۲±۱۵/۰۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، از فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی برخوردار بود و می‌تواند به عنوان آنتی اکسیدانی طبیعی در صنعت مورد استفاده قرار گیرد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد (۲۵). در مطالعه‌ای توسط اشرف و همکاران (۲۰۱۴)، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس قسمت‌های مختلف گیاه برازمبل ارزیابی شد. طبق یافته‌ها، بالاترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی ۷۶/۷ درصد اندازه‌گیری شد. این یافته‌ها حاکی از آن می‌باشند که این گیاه می‌تواند به عنوان آنتی اکسیدانی طبیعی کاربرد داشته باشد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد (۲۶). در پژوهشی توسط غلام علیپور علمداری (۲۰۲۱)، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس برازمبل در مراحل مختلف رشد توسط روش DPPH اندازه‌گیری گردید. برطبق نتایج مشخص شد این گیاه در مرحله گلدهی، دارای مقدار بیشتری از ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها نسبت به سایر قسمت‌ها و حتی مرحله‌ی رویشی می‌باشد. به طور کلی در این مطالعه مشخص شد اسانس برازمبل به دلیل دارا بودن مقادیر قابل قبولی از ترکیبات فعال زیستی مانند فنولیک، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها می‌تواند به عنوان منبع مهم آنتی اکسیدان طبیعی برای مکمل‌های دارویی و غذایی طبیعی معرفی شود و جایگزینی برای آنتی اکسیدان‌های سنتزی باشد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد (۲۷) قادری و همکاران (۲۰۱۹)، نیز فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه برازمبل را در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند و نتایج IC_{50} را به ترتیب ۲۳۰/۴ و ۲۷۵/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند که نشان دهنده‌ی فعالیت خوب آنتی اکسیدانی این گیاه می‌باشد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد (۱۰).

اندازه ذرات نانوامولسیون اسانس برازمبل با ۵ تکرار اندازه‌گیری و معادل ۳۲/۴۳±۱۶۲/۱۱ نانومتر گزارش

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:34 IRST on Thursday March 9th 2023

گردید. بر طبق مطالعات مختلف، استفاده از اسانس‌ها به صورت نانوامولسیون به دلایل مختلفی همانند افزایش حلالیت، افزایش سطح تماس و پایداری اسانس سبب افزایش خاصیت ضد میکروبی آن می‌گردد (۱۳، ۱۴، ۲۷). هاتاناکا[1] و همکاران (۲۰۱۰) و همچنین سورینو[2] و همکاران (۲۰۱۵)، در مطالعاتشان محدوده کمتر از ۵۰۰ نانومتر را در ابعاد نانو در نظر گرفتند که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مطابقت دارد (۲۹، ۳۰).

نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که اسانس برازمبل به دلیل دارا بودن ترکیباتی چون کامفور و آلفا پینن از خواص ضد میکروبی خوبی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مهم با منشاء غذایی برخوردار است. اثر ضد میکروبی نانوامولسیون اسانس برازمبل با افزایش غلظت، افزایش می‌یابد. با توجه به نتایج بررسی اثر ضد میکروبی و خواص آنتی اکسیدانی نانوامولسیون اسانس برازمبل در مطالعه‌ی حاضر، مشخص می‌شود که اسانس برازمبل می‌تواند به عنوان نگهدارنده و آنتی اکسیدانی طبیعی در صنعت غذا به منظورکنترل رشد باکتری‌های مهم پاتوژن با منشاء غذایی و افزایش زمان ماندگاری محصولات غذایی استفاده شود. همچنین به دلیل وجود میزان بالای کامفور آن، در صنایع مختلف دیگری همانند داروسازی، شیمیایی و آرایشی-بهداشتی قابل استفاده می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش دارای کد اخلاق از کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه فردوسی مشهد به شماره IR.UM.REC.1400.347 می‌باشد. بدینوسیله از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

بدینوسیله نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

[1] Hatanaka
[2] Severino

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:34 IRST on Thursday March 9th 2023

References

1. Eshraghi S, Amin G, Othari A. Evaluation of antibacterial properties and review of 10 medicinal herbs on preventing the growth of pathogenic Nocardia species. *J Med Plants.* 2009; 8(32): 60-78. http://dorl.net/dor/20.1001.1.2717204.2009.8.32.8.5

2. Mohebbi A, Barati Z, Attar H, Maasoumi AA. Investigation on the Effect of Anti-bacterial of the Plant Extract of *Perovskia abrotanoides* Karel on Number Pathogenic Bacteria and Fungi. *J Med Plants.* 2011; 10(39):93-102. http://dorl.net/dor/20.1001.1.2717204.2011.10.39.11.6

3. Torabian Kakhki, M, Sedaghat, N, Mohsenzadeh, M. Chemical composition, antioxidative, antibacterial, and time-kill activities of some selected essential oils against foodborne pathognic and spoilage organisms. *Vet Res Forum* 2020; 11(4): 339-346. https://doi.org/10.30466/vrf.2018.91902.2223

4. Noshad M, Falah F. Study the chemical composition of essential oil of *Foeniculum vulgare* and antioxidant activity and its cell toxicity. *J Food Sci Technol.* 2020; 17(104), 124-133.[In Persian] http://dx.doi.org/10.52547/fsct.17.104.124

5. Ahmadi Z, Sattari M, Tabarraee, B, Bigdeli, M. Identification of the constituents of *Achillea santolina* essential oil and evaluation of the anti-microbial effects of its extract and essential oil. *J. Arak Uni Med Sci.* 2011; 14(3), 1-10. http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-603-en.html

6. Merrikhi Ardebili E, Mohsenzadeh M. Evaluation of methyl cellulose edible coating incorporated with *Carum copticum* L. essential oil and *Turmeric* (*Curcuma longa* L.) extract on growth control of *Listeria monocytogenes* inoculated to chicken meat portions storaged at 4˚ C. *Food Science and Technology*. 2018 Dec 10;15(83):315-28. http://fsct.modares.ac.ir/article-7-15716-en.html

7. Shahraki, Saeedeh and Mahdavi, Seyedeh Khadijeh and Hosseini (Habib), Seyed Ali and Mazandarani, Masoumeh, 2013, Phytochemical study of *Proveskia abrotanoides* karel Case study of Golestan National Park, *the first regional conference on medicinal plants in the north of the country, Gorgan*.[in Persian]

8. Mahboubi M, Kazempour N. The antimicrobial activity of essential oil from *Perovskia abrotanoides* karel and its main components. *Indian J Pharm Sci.*. 2009; 71(3):343. https://dx.doi.org/10.4103%2F0250-474X.56016

9. Jamzad, Z. A survey of *Lamiaceae* in the flora of Iran. *Rostaniha.* 2013; 14(1): 59-67. https://dx.doi.org/10.22092/botany.2013.101317

10. Ghaderi S, Ebrahimi SN, Ahadi H, Moghadam SE, Mirjalili MH. In vitro propagation and phytochemical assessment of *Perovskia abrotanoides* Karel. (Lamiaceae)–A medicinally important source of phenolic compounds. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2019; 19: 101113. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101113

11. Mirsadeghi S, Koudehi MF, Rajabi HR, Pourmortazavi SM. Green and simple synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *perovskia abrotanoides*: characterization, optimization and antimicrobial activity. Curr. Pharm. Biotechnol. 2020; 21(11): 1129-37. https://doi.org/10.2174/1389201020666190618121218

12. Riaz M, Rasool N, Bukhari IH, Shahid M, Zahoor AF, Gilani MA et al. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxicity studies of *Russelia equisetiformis*. *Afr. J. Microbiol. Res.* 2012; 6(27): 5700-7. https://doi.org/10.5897/AJMR12.800

13. Gahruie HH, Ziaee E, Eskandari MH, Hosseini SM. Characterization of basil seed gum-based edible films incorporated with *Zataria multiflora* essential oil nanoemulsion. *Carbohydr polym. 2017; 166: 93-103.* https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.103

14. Heydari M, Bagheri M. The Antimicrobial Effects of Hydro-Extract of *Mentha Piperita Lamiaceae* Essential Oil Nanoemulsion on Gram-negative Bacteria of *Escherichia coli*: A Laboratory Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci.* 2019; 18(6): 515-528. http://journal.rums.ac.ir/article-1-4433-en.html

15. Eghbal, H, Mohammadi, A, Mohammad Nejad Khiavi, N, Ahmadi Sabegh, M, Jahani, N. Comparison of the Antibacterial Properties of Essential Oils of Malva Sylvestris and Salvia Officinalis on Common Bacteria of

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:34 IRST on Thursday March 9th 2023

Oral Infection with Chlorhexidine Mouthwash. J Mashhad Den. Sch. 2021; 45 (3): 217-29 .[in Persian]. https://dx.doi.org/10.22038/jmds.2021.54124.1983

16. Kayode RM, Afolayan AJ. Cytotoxicity and effect of extraction methods on the chemical composition of essential oils of *Moringa oleifera* seeds. *J Zhejiang Univ Sci.* 2015; 16(8): 680-689. https://doi.org/10.1631/jzus.B1400303

17. Azizian A, Khanzadi S, Hashemi M, Azizzadeh M. Inhibitory Effect of Nano-gel/Emulsion of Chitosan Coating Incorporated with *Ziziphora Clinopodioides* Essential Oil and Nisin on *Escherichia coli* O_{157}: H_7 Inoculated in Beef at Cold Storage Condition. *Journal of Nutrition, Fasting and Health.* 2019;7(2):103-9.

18. Morteza-Semnani K. The essential oil composition of *Perovskia abrotanoides* from Iran. *Pharm Biol* 2004; 42(3): 214-216 https://doi.org/10.1080/13880200490514078

19. Erdemgil FZ, Ilhan S, Korkmaz F, Kaplan C, Mercangöz A, Arfan M et al. Chemical composition and biological activity of the essential oil of *Perovskia atriplicifolia*. from Pakistan. *Pharm. Biol.* 2007; 45(4):324-31. https://doi.org/10.1080/13880200701212890

20. Hafez Ghoran S, Azadi B, Hussain H. Chemical composition and antimicrobial activities of *Perovskia artemisioides* Boiss. essential oil. *Nat Prod Res.* 2016; 30(17): 1997-2001. https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1101694

21. Motavalizadeh Kakhky A, Rustaiyan A, Masoudi S, Tabatabaei-Anaraki M, Salehi HR. Composition of the essential oil of *Perovskia abrotanoides* Karel. and *Mentha longifolia* L. from Iran. *J Essent Oil-Bear plants.* 2009; 12(2): 205-12. https://doi.org/10.1080/0972060X.2009.10643712

22. Safaeighomi JA, Batooli H. Determination of bioac tive molecules from flowers, leaves, stems and roots of *Perovskia abrotanoides* Karel growing in central Iran by nano scale injection. *Dig J Nanomater Biostructures.* 2010; 5: 551-556. https://chalcogen.ro/551_Ghomi-(2).pdf

23. Hamedi B, Mohammadi Z, Ghasemi Pirbalouti A. Antibacterial activity of the essential oils from five endemic herbs (*Lamiaceae*). *J Med Herb.* 2013; 4(3):132-135. http://jhd.iaushk.ac.ir/m/article_635203.html

24. Ghasemi PA, Jahanbazi P, Enteshari S, Malekpoor F, Hamedi B. Antimicrobial activity of some Iranian medicinal plants. *Arch Biol Sci*. 2010; 62(3): 633-41. https://doi.org/10.2298/ABS1003633G

25. Ghafourian M, Mazandarani M. Ethnopharmacology, ecological requirements, antioxidant and antimicrobial activities of *Perovskia abrotanoides* Karel. extract for vaginal infections from semnan province. *Int J Women's health Reprod Sci*. 2016; 5(4): 295-300. https://doi.org/ 10.15296/ijwhr.2017.50

26. Ashraf SN, Zubair M, Rizwan K, Tareen RB, Rasool N, Zia-Ul-Haq M. Compositional studies and Biological activities of *Perovskia abrotanoides* Kar. oils. *Biol Res.* 2014; 47(1): 1-9. https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-12

27. Alamdari EG. GC-MS analysis of the essential oil composition and antioxidant activity of *Perovskia abrotanoides* Kar. from different growth stages. *Indian J Nat Prod Resour* 2021; 12(2): 230-237. http://op.niscair.res.in/index.php/IJNPR/article/view/34688

28. Bhargava K, Conti DS, da Rocha SR, Zhang Y. Application of an oregano oil nanoemulsion to the control of foodborne bacteria on fresh lettuce. *Food microbiol*. 2015; 47: 69-73. https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.007

29. Hatanaka J, Chikamori H, Sato H, Uchida S, Debari K, Onoue S. et al. Physicochemical and pharmacological characterization of α-tocopherol-loaded nano-emulsion system. *International Int J Pharm.* 2010; 396(1-2): 188-93. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.06.017

30. Severino R, Ferrari G, Vu KD, Donsì F, Salmieri S, Lacroix M. Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nanoemulsion of essential oils, modified atmosphere packaging and gamma irradiation against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium on green beans. *Food control.* 2015; 50: 215-22. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.08.029

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:34 IRST on Thursday March 9th 2023

Journal of Neyshabur University of Medical Sciences

www.journalnums.ac.ir

Investigation of chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Perovskia abrotanoides* Kar. essential oil nanoemulsion against important food pathogens

Katayoun Ahmadi[1], Mohammad Mohsenzadeh[1,*], Zahra Panahi[1], Roya Rezaeian-Doloei[2]

1- Department of Food hygiene and Aquaculture, School of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Department of Agricultural sciences, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Original Article

Received: 14 Jan 2022
Accepted: 7 Jun 2022

***Corresponding Author:**:
Mohammad Mohsenzadeh
Professor, Department of Food hygiene and Aquculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
TEL: 05138805635
Email:
mohsenzadeh@um.ac.ir

ABSTRACT

Introduction

Plant essential oils are used as natural preservatives due to their antimicrobial and antioxidant properties. The aim of this study was to investigate the chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Perovskia abrotanoides* Kar essential oil (PAEO) nanoemulsion.

Materials and Methods

The chemical composition of the essential oil was determined by gas chromatography apparatus connected to a mass spectrometer. The antioxidant properties PAEO essential oil by DPPH method and its antibacterial effect on *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium and *Stylococcus aureus* were determined by broth microdilution, agar well diffusion and disk diffusion methods.

Results

In the chemical analysis of PAEO, 21 compounds were identified, of which eucalyptol and camphor and a-pinene were the major constituents. The IC_{50} of PAEO was 46.44 mg / ml. Among the studied bacteria, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* showed the highest sensitivity (MIC=0.03%) and *Staphylococcus aureus* showed the lowest sensitivity (MIC=0.2%) to PAEO nanoemulsion. The bacterial growth inhibition zone in disk diffusion method in the studied concentrations, from 7.06±0.60 to 58.43±1.40 mm and in the agar well diffusion method between 6.56±0.60 to 54.93±1.10 mm was variable.

Conclusion

PAEO Nanoemulsion can be used in the food industry despite its phenolic and camphor compounds as a natural antioxidant and antimicrobial compound.

Keywords

Nanoemulsion, *Perovskia abrotanoides* Kar essential oil, Food pathogens, Broth microdilution, Antibacterial

► ***Please cite this article as:*** Ahmadi K, Mohsenzadeh M, Panahi Z, Rezaeian-Doloei R. Investigation of chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of Perovskia abrotanoides Kar. essential oil nanoemulsion against important food pathogens. J Neyshabur Univ Med Sci 2022;10(1)105-119.